

**Centre Toulousain
pour le Contrôle de qualité
en Biologie clinique**

Compte rendu 151
Comptage manuel des cellules dans les liquides physiologiques

Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973
et enregistrée sous le n°W313002633
CTCB - 33 route de Bayonne - 31300 TOULOUSE
☏ : 05 34 51 49 80 – Fax : 01 57 67 25 90
Email : secretariat.ctcb@ctcb.com– site Internet : www.ctcb.com
Siret : 428 789 853 000 28 – APE : 8559A

Date d'émission : 06/05/2015 *Statut du document :* Définitif



PROGRAMME GÉRÉ PAR LE CTCB ET MUTUALISÉ AVEC L'ASSOCIATION BIOLOGIE PROSPECTIVE.



Expert biologiste	Coordonnateur des programmes	Vérification du contenu scientifique et autorisation du rapport d'essai d'aptitude
Dr S. ALBAREDE *Pharmacien Biologiste* s.albarede@ctcb.com	*Dr S. ALBAREDE* *Pharmacien Biologiste* s.albarede@ctcb.com	ALBAREDE Stéphanie Signature numérique de ALBAREDE Stéphanie DN : cn=ALBAREDE Stéphanie, o=CTCB, ou=Coordonnateur des programmes, email=s.albarede@ctcb.com, c=FR Date : 2015.05.06 13:58:25 +02'00'

Documentation

Le compte rendu comporte les éléments suivants :

- Une partie commune pour tous les laboratoires :
  - ✓ Pages explicatives : présentation du programme, évaluation du laboratoire et informations générales,
  - ✓ Exploitation statistique,
  - ✓ Commentaire éventuel sur les réponses des participants.

- Une partie propre à chaque laboratoire « Résultats individuels » en annexe 1 :
  - ✓ Résultats du laboratoire
  - ✓ Evaluation de la performance du laboratoire

Sommaire

1 - PRESENTATION DU PROGRAMME D'INTER COMPARAISON

Coordonnateur et Expert du programme : Stéphanie Albarède, CTCB, s.albarede@ctcb.com

- **Produits de contrôle utilisés :**

Les échantillons sont constitués de globules rouges et globules blancs de mammifères en suspension dans un liquide équivalent au plasma contenant des agents conservateurs.

- **Présentation du programme:**

Ce programme comprend deux opérations annuelles avec 3 échantillons (1mL) de niveaux différents par envoi. Ces échantillons sont conçus pour le suivi des performances des comptages de cellules en technique manuelle en utilisant un hématimètre pour valider la quantité de globules rouges et blancs dans les échantillons de liquides physiologiques du corps humain.
Les échantillons sont adressés aux laboratoires par la société EUROCELL. L'envoi se fait en coffret carton inséré dans une boîte polystyrène renfermant 1 ou 2 packs réfrigérants. Le transport est assuré en **EXPRESS**.

2 - TRAITEMENT STATISTIQUE QUANTITATIF

Le traitement statistique quantitatif est réalisé selon le protocole suivant :

- Exclusion des valeurs aberrantes (erreur de saisie, inversion tubes …) par médiane +/- 50 %,
- Détermination des paramètres « ROBUSTES » à partir des valeurs restantes : nous utilisons l'Algorithme A décrit dans la norme NF ISO 13528 (Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons inter-laboratoires) pour déterminer la moyenne robuste, l'écart type robuste et le coefficient de variation robuste.
- Critères de rendus des résultats :
    - o si l'effectif est supérieur ou égal à 3 pour « toutes techniques », « par hématimètre réutilisable (verre)» ou « par hématimètre à usage unique ».

En synthèse, nous obtenons :

- N : nombre de valeurs avant troncature par la médiane + / - 50 %
- N* : nombre de valeurs après troncature par la médiane + / - 50 %
- Moy r : moyenne robuste
- ET r : écart-type robuste
- CV r : coefficient de variation robuste = (ETr x 100) / (Moy r)
- Min : la plus petite valeur après troncature
- Max : la plus grande valeur après troncature

Les moyennes robustes « Toutes techniques » sont confortées par les valeurs cibles du fournisseur et sont ensuite utilisées comme valeurs assignées pour le présent contrôle.

3 - DETERMINATION DE LA NOTATION DU LABORATOIRE

La notation en z-score n'est pas adaptée à cette analyse (trop de facteurs de variabilité) : un nombre non négligeable de résultat est éliminé par la médiane +/- 50% puis réaffecté par l'algorithme A, ce qui aurait comme impact une notation trop sévère.
Les tableaux de notation ci-dessous ont été établis à partir de valeurs normales communément admises et de l'analyse statistique « Toutes techniques » (moyenne robuste, valeurs minimum et maximum).

- **Echantillon 1511**

Leucocytes par µl	
0	C
1-2	B
3-11	A
12-15	B
16-39	C
>39	D

Hématies par µl	
0	A
1-2	B
3-4	C
>4	D

- **Echantillon 1512**

Leucocytes par µl	
<80	D
80-164	C
165-249	B
250-430	A
431-515	B
516-600	C
>600	D

Hématies par µl	
<300	D
300-599	C
600-899	B
900-1515	A
1516-1820	B
1821-2400	C
>2400	D

- **Echantillon 1513**

Leucocytes par µl	
<40	D
40-50	C
51-69	B
70-120	A
121-170	B
171-250	C
>250	D

Hématies par µl	
<70	D
70-119	C
120-179	B
180-280	A
281-300	B
>300	D

Le système de notation repose sur l'échelle d'évaluation suivante :

- A = Réponse attendue
- B = Réponse acceptable
- C = Réponse à analyser par le laboratoire
- D = Réponse erronée

4 - ANALYSES DES REPONSES ET COMMENTAIRES

150 laboratoires sur 179 (84%) ont participé à cette première enquête de comptage de cellules en hématimètre de la campagne 2015. Les effectifs des tableaux suivants sont supérieurs à 150 car les laboratoires ont eu la possibilité de rendre les résultats obtenus pour cinq opérateurs différents. Ainsi, 657 opérateurs ont pu participer à ce contrôle.

En réponse à la demande d'un laboratoire "Dommage de ne pas pouvoir saisir pour le même opérateur le comptage en hématimètre réutilisable et hématimètre à usage unique", nous vous précisons que cela est possible. Pour chaque opérateur, vous pouvez saisir un type d'hématimètre différent. Vous pouvez donc décider que l'opérateur 1 et l'opérateur 2 correspondent à la même personne mais à deux supports de lecture différents. En effet, vous êtes maître de la traçabilité de chaque réponse puisque vous ne saisissez pas le nom des opérateurs.

Le nombre d'utilisateurs par hématimètre réutilisable est précisé dans le tableau I. La cellule de Malassez a été préférentiellement utilisée.
Le nombre d'utilisateurs par hématimètre à usage unique est précisé dans le tableau II. Ce type d' hématimètre est le plus utilisé.

Hématimètres réutilisables	Nombre d'utilisateurs
Cellule de Malassez	73
Cellule de Lemaur	4
Cellule de Neubauer	1
Cellule de Nageotte	1
Cellule de Thoma	1

Tableau I. Répartition des opérateurs selon l'hématimètre réutilisable

Hématimètres à usage unique	Nombre d'utilisateurs
Lame Kova	520
Cyturine/Fastread (Elvetec)	42
C-Chips DHC –F01	5
Autre	11

Tableau II. Répartition des opérateurs selon l'hématimètre à usage unique

Nous rappelons régulièrement de bien lire la notice d'utilisation des échantillons de contrôle, notamment concernant la phase pré-analytique.

Nous essayons d'avoir des échantillons au plus proche des matrices humaines, cependant cela n'est pas toujours possible. Dans le cadre de ce contrôle, les hématies et leucocytes doivent être stabilisés pour ne pas subir une lyse pendant la durée de l'opération de contrôle. Dans cette matrice, la remise en suspension des cellules est plus difficile que dans des urines (problème de rhéologie). Il est donc très important d'appliquer à la lettre le mode d'emploi concernant l'agitation de l'échantillon avant mise en hématimètre.

Pour illustrer cette recommandation, nous avons demandé à une technicienne expérimentée de faire plusieurs fois l'analyse d'un échantillon selon deux procédures :
- selon le mode d'emploi que nous vous fournissons
- après 5 retournements du flacon.

Dans le premier cas la moyenne de ses résultats était de 1305 hématies par microlitre, dans le second cas 846 hématies par microlitre.

Enfin, il semblerait que les résultats soient plus dispersés sur hématimètres à usage unique (sauf C-CHIPS) que sur hématimètre réutilisable. Ceci est à vérifier sur urine de patient.

I. Traitement statistique « Toutes techniques »

On remarque dans le tableau ci-dessous que la moyenne robuste « toutes techniques » est comparable à la valeur cible fabricant, quelle que soit la lignée cellulaire ou quel que soit le niveau de concentration.

Echantillon	Paramètre	N	N*	Moy r	ET r	CV r	Min	Max	Valeur fabricant
1511	Hématies	657	477	**0**	0	0	0	0	**0**
1511	Leucocytes	657	416	**5,0**	1,6	31,2	3	7	**7**
1512	Hématies	651	582	**1208,3**	303,6	25,1	620	1820	**1100**
1512	Leucocytes	651	587	**342,1**	84,8	24,8	175	520	**320**
1513	Hématies	653	550	**228,4**	51,1	22,4	118	345	**243**
1513	Leucocytes	653	554	**95,8**	21,7	22,7	50	148	**99**

Données exprimées en Nombre de cellules par µl

II. Traitement statistique « Par hématimètre réutilisable (verre) »

Pour information les 4 lecteurs en cellule de Lemaur proviennent du même laboratoire.

Echantillon	Hématimètre	Paramètre	N	N*	Moy r	ET r	CV r	Min	Max
1511	Cellule de Lemaur	Hématies	4	3	0	0	0	0	0
1511	Cellule de Malassez	Hématies	73	50	0	0	0	0	0
1511	Cellule de Lemaur	Leucocytes	4	3	5	0	0	4	5
1511	Cellule de Malassez	Leucocytes	73	51	7,2	1,8	24,7	4	10
1512	Cellule de Lemaur	Hématies	4	4	894,3	99,5	11,1	800	1028
1512	Cellule de Malassez	Hématies	73	63	1124,8	130,6	11,6	760	1380
1512	Cellule de Lemaur	Leucocytes	4	4	260,5	33,4	12,8	200	295
1512	Cellule de Malassez	Leucocytes	73	68	314,5	42,6	13,6	180	430
1513	Cellule de Lemaur	Hématies	4	4	174,9	29,4	16,8	150	226
1513	Cellule de Malassez	Hématies	73	67	230,6	37,7	16,3	150	330
1513	Cellule de Lemaur	Leucocytes	4	4	82,5	13,3	16,1	68	96
1513	Cellule de Malassez	Leucocytes	73	68	92,2	12,1	13,2	50	130

Données exprimées en Nombre de cellules par µl

III. Traitement statistique « Par hématimètre à usage unique »

➢ **Par nom commercial d'hématimètre à usage unique**

Echantillon	Hématimètre	Paramètre	N	N*	Moy r	ET r	CV r	Min	Max
1511	C-Chips DHC-F01	Hématies	5	4	1	0	0	1	1
1511	Cyturine / Fastread (Elvetec)	Hématies	42	27	0	0	0	0	0
1511	Lames Kova	Hématies	520	387	0	0	0	0	0
1511	C-Chips DHC-F01	Leucocytes	5	4	4,8	1,7	35,8	3	6
1511	Cyturine / Fastread (Elvetec)	Leucocytes	42	20	4,1	1,5	36,9	2	6
1511	Lames Kova	Leucocytes	520	342	4,9	1,5	30,9	3	7
1512	C-Chips DHC-F01	Hématies	5	5	941,7	26,6	2,8	850	965
1512	Cyturine / Fastread (Elvetec)	Hématies	42	38	908,0	224,2	24,7	485	1310
1512	Lames Kova	Hématies	514	466	1266,5	318,8	25,2	650	1920
1512	C-Chips DHC-F01	Leucocytes	5	5	281,0	23,2	8,2	260	305
1512	Cyturine / Fastread (Elvetec)	Leucocytes	42	37	277,3	70,4	25,4	150	380
1512	Lames Kova	Leucocytes	514	468	355,1	89,8	25,3	180	540
1513	C-Chips DHC-F01	Hématies	5	5	200,6	9,4	4,7	185	215
1513	Cyturine / Fastread (Elvetec)	Hématies	42	35	220,8	44,4	20,1	150	288
1513	Lames Kova	Hématies	516	438	231,7	56,6	24,4	118	351
1513	C-Chips DHC-F01	Leucocytes	5	5	77,1	4,5	5,8	70	81
1513	Cyturine / Fastread (Elvetec)	Leucocytes	42	35	95,4	15,9	16,7	58	136
1513	Lames Kova	Leucocytes	516	441	97,9	24,9	25,4	50	150

Données exprimées en Nombre de cellules par µl

➢ **Par Type d'hématimètre à usage unique**

Pour information les 5 lecteurs en cellule de Malassez proviennent du même laboratoire.

Echantillon	Hématimètre	Paramètre	N	N*	Moy r	ET r	CV r	Min	Max
1511	Cellule de Malassez	Hématies	5	4	1	0	0	1	1
1511	Cellule de Malassez	Leucocytes	5	5	4,0	1,8	44,8	2	6
1512	Cellule de Malassez	Hématies	5	5	1016,0	144,7	14,2	890	1190
1512	Cellule de Malassez	Leucocytes	5	5	337,0	47,4	14,1	280	385
1513	Cellule de Malassez	Hématies	5	5	223,4	15,7	7,0	210	250
1513	Cellule de Malassez	Leucocytes	5	5	89,4	17,8	19,9	75	106

Données exprimées en Nombre de cellules par µl

*****

Pour tout renseignement :
COORDONNATEUR / BIOLOGISTE : Stéphanie ALBAREDE - s.albarede@ctcb.com
ADMINISTRATIF : Marie-Christine ONDERBEKE, Tél. : 05.34.51.49.80 - Fax : 01.57.67.25.90 - secretariat.ctcb@ctcb.com
TECHNIQUE : Delphine GARIMBAY, Tél. : 05.34.51.49.81 - d.garimbay@ctcb.com
QUALITE : Erick SANCHEZ, Tél. : 05.34.51.49.82 - e.sanchez@ctcb.com
INFORMATIQUE : Philippe GONZALVO - p.gonzalvo@ctcb.com

Information :
Les essais d'homogénéité et de stabilité se sont avérés conformes aux modalités décrites dans la procédure de contrôle.
Les documents utilisés pour réaliser ce programme d'intercomparaison (préparation des objets d'essai, détermination des valeurs indicatives et assignées, traitement statistique, …) sont disponibles sur demande auprès du CTCB.
L'interprétation de ces résultats ne doit pas se faire isolément et doit être rapprochée de ceux obtenus lors des autres opérations de contrôle effectuées dans le cadre de l'évaluation interne et de l'évaluation externe du laboratoire.